

Aus der Abteilung für Anästhesiologie
der Universitätskliniken Gießen
Direktor: Prof. Dr. med. H. L'Allemand

**Zur Frage der Placentarpassage von Ketamin und Diazepam:
Quantitative Untersuchungen
mit Hilfe der Gaschromatographie.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereichs Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Hans-Jochen Witkop
aus Braunfels/Lahn

Gießen 1973

Aus der Abteilung für Anästhesiologie
der Universitätskliniken Gießen
Direktor: Prof. Dr. med. H. L'Allemand

**Zur Frage der Placentarpassage von Ketamin und Diazepam:
Quantitative Untersuchungen
mit Hilfe der Gaschromatographie.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
des Bereichs Humanmedizin
der Justus Liebig-Universität Gießen

vorgelegt von
Hans-Jochen Witkop
aus Braunfels/Lahn

Gießen 1973

Von der Abteilung für Anatomie
der Universitätsbibliothek
Dresden, Prof. Dr. med. H. L'Allemand

Zur Festschrift der 100-jährigen
Jubiläum der Universitätsbibliothek
mit einer Geschichte der Bibliothek



Verlegt von
J. B. van der
Linden, Buchhändler
in Leiden

Dekan: Professor Dr. rer.nat. Hj. Staudinger
Referent: Professor Dr. med. H. L'Allemand
Correferent: Dozent Dr. D. Post

Verlegt von
J. B. van der
Linden, Buchhändler
in Leiden

Leiden 1913

Meiner Frau

INHALTSVERZEICHNIS :

I. Einleitung	(Seite 5)
II. Methodik der quantitativen Bestimmung von Ketamin und Diazepam im Serum.	
a) Extraktion und Gaschromatographie von Ketamin	(Seite 12)
b) Extraktion und Gaschromatographie von Diazepam	(Seite 25)
c) Klinische Versuchsanordnung	(Seite 37)
III. Ergebnisse der Untersuchungen am Menschen	(Seite 38)
IV. Diskussion der Ergebnisse	(Seite 42)
V. Zusammenfassung	(Seite 50)
VI. Literatur	(Seite 52)
VII. Lebenslauf	(Seite 58)

I. Einleitung :

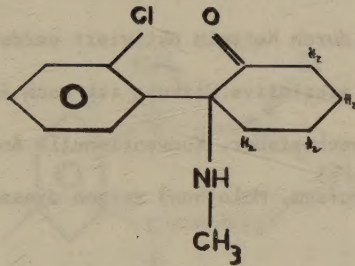
Während sich die Narkoseführung in der Gynäkologie nicht von der bei chirurgischen Eingriffen unterscheidet, muß bei Anästhesien während der Gravidität und zur Entbindung die Einwirkung der verwendeten Anästhetica auf die Motilität des Uterus und den Foeten in Rechnung gestellt werden.

Die wichtigste Forderung an den Narkotiseur ist daher die größtmögliche Schonung des Foeten, von zweitrangiger Bedeutung ist die Erleichterung, bzw. Beseitigung des Wehen- und Geburtsschmerzes der Mutter. Diese Ansprüche befriedigen aus anästhesiologischer Sicht die verschiedenen Methoden der regionalen Schmerzausschaltung, nämlich Peridural-, Sacral- und Spinalanästhesie. Bei dem heutigen Fortschritt der Allgemeinanästhesie und dem zunehmenden Stand an ausgebildeten Anästhesisten überwiegt jedoch die Allgmeinarkose gegenüber den regionalen Betäubungsformen. Es gilt auch hier, ein Narkoseverfahren zu wählen, bei dem der depressorische Effekt auf das ZNS des Foeten möglichst gering gehalten werden kann. Der Zeitfaktor - vom Beginn

der Narkose bis zur Abnabelung - spielt dabei eine nicht unerhebliche Rolle.

In letzter Zeit erscheinen in der Fachwelt häufiger Berichte über die Agentien Ketamin und Diazepam, die diesen Ansprüchen der geburtshilflichen Anästhesie genüge zu leisten scheinen (Langrehr 1970; Kaufmann und Mitarb. 1971).

Ketamin aus der Gruppe der Arylcycloalkylamine wurde erstmals 1965 in der Klinik angewandt (Domino et al.). Seit 1969 ist es offiziell auf dem deutschen Markt eingeführt (Abb. 1).



KETAMIN

Abb. 1 : Strukturformel

Es stellt ein wirkungsvolles Allgemeinanästhetikum dar, das in seiner Wirkung auf das Zentralnervensystem eindeutige Unterschiede zu den bisher gebräuchlichen, konventionellen Anästhetica aufweist. Für die Ketamin-Narkose ist der Begriff der "dissoziativen Anästhesie" geprägt worden. Elektroencephalographische Untersuchungen lassen den Schluß zu,

daß Ketamin auf gewisse Hirnregionen, wie z.B. das cortico-thalamische System selektiv depressorisch wirkt, während zu gleicher Zeit andere Hirnzentren, wie Teile des limbischen Systems (Hippocampus) durch Ketamin aktiviert werden (Kugler et al. 1968). Diese dissoziative Wirkung ist auch im Bereich der Hirnrinde selbst nachweisbar. Konventionelle Anästhetica (Barbiturate, Chloroform, Halothan) zeigen diesen Effekt nicht.

Dies mag erklären, warum klinisch die durch Ketamin erzeugte Narkose in vieler Hinsicht deutliche Unterschiede zu den von anderen Anästhetica herbeigeführten Narkosen aufzeigt.

Die dissoziative Anästhesie ist gekennzeichnet durch komplette Analgesie, verbunden mit oberflächlichem Schlaf. Alle Schutzreflexe, wie Husten und Schlucken, sind erhalten, oft gar gesteigert. Das Kreislaufsystem ist stimuliert mit Anstieg des systolischen und diastolischen Blutdruckes und Erhöhung der Pulsfrequenz. Die Atmung ist nur nach schneller intravenöser Injektion geringfügig gedämpft. Hingegen bestehen in der Aufwachphase nicht selten psychomimetische Komplikationen.

Diazepam aus der Reihe der Benzodiazepine wurde 1961 in die Klinik eingeführt (Abb. 2).

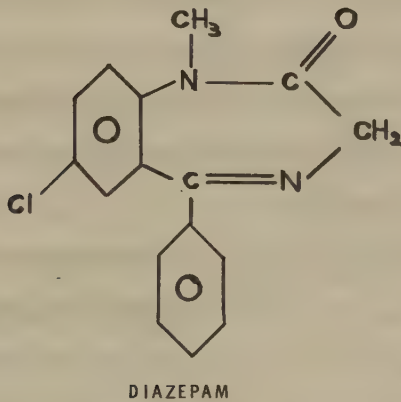


Abb. 2 : Strukturformel

Es greift im Zentralnervensystem besonders intensiv am limbischen System an (Pletscher 1964). Medikamente, die diese Hirnregion depressiv beeinflussen, beseitigen Angst- und Spannungszustände, sie dämpfen Erregung und Reizbarkeit,

ohne die körperliche Aktivität wesentlich einzuschränken. Vorerst in der Psychiatrie benutzt, fand Diazepam in den letzten Jahren wegen seiner ausgeprägten sedierenden und muskelrelaxierenden Wirkung breiten Eingang in Anästhesiologie, Gynäkologie und Intensivmedizin. Seine Kreislaufwirkung ist gering. Im Tierversuch kommt es nur nach massiver Überdosierung (15 mg/kg KG) zu Blutdrucksenkung und Bradykardie (Randall 1961, Chai 1966).

Intravenös appliziert, bewirkt es eine "Pseudo-Narkose" mit psychischer Entspannung und guter Muskelrelaxation. Die Patienten sind ruhig, verspüren nur wenig Schmerzen und haben eine totale Amnesie. Atemstillstand und Nausea sind bisher bei einer Dosierung von 0,2 - 0,4 mg/kg KG nicht beobachtet worden. Der Hustenreflex bleibt bei dieser Dosierung erhalten.

Der Indikationsbereich beider Medikamente ist für gynäkologische und geburtshilfliche Eingriffe annähernd identisch (Spontangeburt, Vakuumextraktion, Episiotomie, Abrasio, Hystero-graphien). Bei der Applikation von Ketamin und Diazepam im

Kreißsaal wird die vollnarkotisierte Mutter bei richtiger Technik in der Regel von einem wachen Kind entbunden. Aus dieser Beobachtung ist gelegentlich geschlossen worden, daß die Anästhetica die Placentarschranke nicht, oder nur teilweise passieren (Glazko, zitiert bei Langrehr 1970).

Exakte quantitative Angaben für eine diaplacentare Kinetik von Ketamin und Diazepam beim Menschen liegen noch nicht vor. Dies veranlaßte uns, mit Hilfe der Gaschromatographie zu quantitativen Aussagen über den diaplacentaren Durchtritt beider Substanzen zu gelangen.

II. Methodik der quantitativen Bestimmung von Ketamin und Diazepam im Serum.

a) Extraktion und Gaschromatographie von Ketamin.

Bisherige Mitteilungen zur Pharmakokinetik von Ketamin beschränken sich auf spärliche Angaben über Untersuchungen mit der tritiummarkierten Substanz (Chang et al., 1970), bzw. basieren auf der Verwendung einer fluorimetrischen Methode (Dill et al., 1971). Beide Methoden erlauben keine befriedigende Trennung der Muttersubstanz von ihren Metaboliten. Bessere Ergebnisse sind dagegen von der Gaschromatographie zu erwarten.

Diese ist durch eine hohe Nachweisempfindlichkeit und eine ausgezeichnete Selektivität bei entsprechend richtiger Trennsäulenwahl gekennzeichnet. Versuche der Gruppe um Chang, Dill und Glazko (1965) auf einer 0,75 % belegten SE 30, bzw. auf einer 1 % belegten XE 60 Trennsäule führten zu nicht brauchbaren Ergebnissen, da eine einwandfreie Trennung des Ketamin

von seinen beiden Metaboliten nicht gelang. Dies war für uns der Anlaß, eine eigene spezifische und empfindliche Methode zu entwickeln. Sie beruht auf der Extraktion des Ketamin in Heptan und anschließender gaschromatographischer Analyse auf einer 0,5 % belegten Carbowax-Säule. Es gelingt mit dieser Methode die Trennung der Reinsubstanz Ketamin von ihren bekannten Metaboliten I (N - Demethylierung) und II (Cyclohexenderivat von Ketamin). Sämtliche drei Substanzen wurden uns in gereinigter Form von der Fa. Parke Davis zur Verfügung gestellt. Bei der Extraktion aus dem Serum jedoch verfälschen serumspezifische Bestandteile (z.B. Steroide und Neutralfette) eine exakte Auswertung der Analysen im unteren Nachweisbereich, etwa in der Größenordnung von 0,05 - 0,1 $\mu\text{g/ml}$.

Die Methode wurde aus diesem Grunde nochmals verbessert. Sie besteht jetzt auf der Extraktion der Substanz aus alkalischem Milieu in Heptan und ihrer Reextraktion in 1 N Essigsäure. Fette und Steroide gehen dabei nicht in die

wässrige, saure Phase über, die Probe kann somit vor der Analyse im Gaschromatographen in hohem Maße von störenden, serum-spezifischen Substanzen befreit werden. Als Standard wird das tertiäre Amin Methyldiphenylamin benutzt. Da diese Substanz nur unzureichend in die Säurephase rückextrahierbar ist, wird der Standard erst am Ende des Extraktionsvorganges der eingedampften Probe im Spritzglas zugesetzt.

Im einzelnen: Zur Extraktion werden 10 ml Serum und 9 ml Aqua dest in 50 ml Schüttelflaschen mit Schliffstopfen gegeben, mit 1 ml 1 N Na OH auf einen pH von ungefähr 11 - 12 eingestellt und durch 10-minütiges Rühren im geschlossenen Gefäß (Magnet-rührer mit Teflonstäbchen) mit 20 ml n-Heptan extrahiert. Anschließend wird für 2 - 3 Minuten bei ca. 4000 U/min. zentrifugiert, um eine scharfe Trennung der Phasen zu erhalten.

15 ml der organischen Phase werden in eine 50 ml Schüttelflasche, die bereits 3 ml 1 N Essigsäure enthält, überführt und 2 Minuten im geschlossenen Gefäß gerührt.

Nach Zentrifugation werden 2,5 ml der wässrigen Phase in einem 50 ml Rundkolben abpipettiert und am Rotationsverdampfer ein-

getrocknet. Die Trockene wird in 0,5 ml Methanol aufgenommen. Von dieser organischen Lösung wird 0,46 ml quantitativ abpipettiert und in ein 10 ml Spritzglas mit Schliffstopfen überführt. Erneute Eintrocknung am Rotationsverdampfer. Der eingetrocknete Rückstand wird endlich im Spritzglas in 0,05 ml Methanol, welches 100 µg Methyldiphenylamin /ml $\text{CH}_3 - \text{OH}$ enthält, aufgenommen. Mit einer Hamilton Spritze werden 2 - 5 µl dieser Lösung in den Gaschromatographen injiziert.

Die gaschromatographische Auftrennung erfolgte an einem Gerät der Fa. Bodenseewerk Perkin Elmer, Modell F 20 mit einem Flammenionisationsdetektor. Zur Vermeidung von katalytischen Reaktionen ist es unbedingt erforderlich, Glasverdampfer und Glassäule zu verwenden. Die gewundene Säule ist 2 m lang und hat einen Innendurchmesser von 0,3 cm. Die Säulenfüllung besteht aus 0,5 % Polyäthylenglykol 20 000 M auf mit Säure gewaschenem und mit DMCS behandeltem Trägermaterial Chromosorb G (30 - 100 mesh).

Die Chromatographie wird nach einer isothermen Vorphase von 5 Minuten temperaturprogrammiert durchgeführt, im Bereich zwischen 90°C und 180°C steigt die Temperatur dann um $7,5^{\circ}\text{C}/\text{min}$. Die Einspritzblocktemperatur beträgt 250°C . Der Gasfluß ist auf 30 ml/min N_2 , 34 ml/min H_2 und 250 - 300 ml/min synthetische Luft eingestellt.

Die Meßwerte für die Funktion der Regressionsgeraden und den Korrelationskoeffizienten (errechnet nach der Methode der kleinsten Quadrate auf einer Olivetti-Programma 603) erhält man, indem bekannte, aber verschiedene Ketaminmengen dem Serum zugesetzt und wie beschrieben extrahiert werden. In das Spritzglas werden vor der Aufspritzung jeweils gleiche Mengen Standard zugegeben. Das Verhältnis Peakhöhe bzw. Peakfläche Ketamin / Standard ist der Konzentration Ketamin ($\mu\text{g}/\text{ml}$) direkt proportional. Für die Eichung der authentischen Substanz fanden wir in den Vorversuchen die Meßwerte linear von 0,01 mg - 2 mg Ketamin/ml Heptan, für die Eichung Ketamin/ml Serum sind die Meßwerte linear von $0,5\mu\text{g}$ - $10\mu\text{g}/\text{ml}$. Die Meß-

werte sind in den Tabellen 1 - 3 zusammengestellt. Für diese Methode liegt die Recovery bei $95 \pm 2,7 \%$ (Tab. 3), die untere Nachweisgrenze bei $0,05 - 0,1 \mu\text{g/ml}$ Serum. Die Reproduzierbarkeit der analytischen Methode - statistisch erfaßt durch den Variationskoeffizienten $V_K = \frac{S}{\bar{X}} \cdot 100 \%$ (Richterich, 1968) - ist für $1 \mu\text{g/ml}$ Serum mit einem Variationskoeffizienten $V_K = 7,64 \%$ ($N = 8$), für $0,5 \mu\text{g/ml}$ mit einem Variationskoeffizienten $V_K = 11 \%$ ($N = 8$) befriedigend (siehe Tab. 2).

Linearer Bereich des Flammenionisationsdetektor für Ketamin von 2mg - 0,01 mg/ml Heptan

innerer Standard : 200 ug Methyldiphenylamin / ml n-Heptan
Einspritzung: 2-3 µl

mg/ml n-Heptan	Peakratio $\left[\frac{h-b_{0,15}}{2} + b_{0,85} \right]$
2	6,167
2	6,320
2	7,00
2	5,166
1	2,762
1	2,067
1	2,541
1	3,194
0,5	1,301
0,5	1,18
0,5	1,187
0,5	1,144
0,5	1,282
0,2	0,66
0,2	0,44
0,2	0,31
0,2	0,47
0,2	0,34
0,1	0,192
0,1	0,290
0,1	0,258
0,1	0,270
0,05	0,097
0,05	0,140
0,05	0,152
0,05	0,127
0,01	0,033
0,01	0,042
0,01	0,063
0,01	0,049

$$y = 2,9262 x - 0,0978$$

$$r = 0,986317$$

Tab. 1 : Linearitätsnachweis der Reinsubstanz Ketamin für den Flammenionisationsdetektor. Die Berechnung des Korrelationskoeffizienten und der Regressionsgeraden beweisen das lineare Verhalten von Konzentration und Peakratio (= Flächenverhältnis) über einen Bereich von $2 \cdot 10^2$. Die Berechnung der Peakflächen erfolgt nach Coudal-Bosch (zitiert in Kaiser, 1969). (h = Höhe des Peaks; $b_{0,15}$ = Breite des Peaks in 15 % der Höhe; $b_{0,85}$ = Breite des Peaks in 85 % der Höhe).

Serumeichung und Reproduzierbarkeit ($V_K = \frac{S}{\bar{x}} \cdot 100\%$) von Ketamin

Aufnahme der Trockene in 50 μ l von der Konzentration
100 μ g Methylphenylamin /ml CH_3-OH

μ g / ml Serum	Peakratio (hcl / hst.)		
5 (n = 5)	$\bar{x} = 1,76$	1,73 - 1,62 - 1,86 - 1,83 - 1,76	
2,5 (n = 6)	$\bar{x} = 0,81$	0,76 - 0,75 - 0,81 - 0,78 - 0,89 - 0,87	
1,0 (n = 8)	$\bar{x} = 0,335$ $s = 0,0256$ $s_x = 0,0097$	0,35 - 0,31 - 0,35 - 0,32 - 0,38 - 0,33 - 0,31 - 0,33	
0,5 (n = 8)	$\bar{x} = 0,1612$ $s = 0,0178$ $s_x = 0,00632$	0,17 - 0,15 - 0,15 - 0,16 - 0,16 - 0,14 - 0,16 - 0,20	

$$y = 0,3520 x - 0,0186$$

$$r = 0,9942$$

Reproduzierbarkeit für 1 μ g/ml Serum : $V_K = \frac{0,0256}{0,335} \cdot 100\% = 7,64\% (n=8)$

" " " 0,5 μ g/ml Serum : $V_K = \frac{0,0178}{0,1612} \cdot 100\% = 11,04\% (n=8)$

Tab. 2 : Linearitätsnachweis und Reproduzierbarkeit der Serumextraktion von Ketamin. Aus der Tabelle ergibt sich wiederum, daß zwischen vorgegebenen Konzentrationen und ihren Flächenverhältnissen eine direkte Proportionalität besteht. Die Reproduzierbarkeit ($V_K = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\%$) der Methode wird an Hand 8 verschiedener Seren für die Konzentrationen 1 μ g/ml und 0,5 μ g/ml überprüft.

Recovery ($\bar{x} \pm S_{\bar{x}} \%$) für Ketamin

Aufnahme der Trockene in 50 μ l von der Konzentration 200 μ g Methylphenylamin / ml CH₃-OH
Aufarbeitung von jeweils 10ml Serum

Reinsubstanz mg/ml Heptan μ g/50 μ l	Peakratio $\left[\frac{h}{h_0} \cdot \frac{15}{2} \right]$	μ g/ml Serum	Peakratio $\left[\frac{h - (h_0 \cdot 15 + h_0 \cdot 85)}{2} \right]$
2 [100/50]	$\bar{x}=5,88-100\%$	10 (n=5)	2,84 - 2,78 - 3,53 - 3,46 - 3,25 $\bar{x}_0 = 3,17 = 53,9\%$
1 [50/50]	$\bar{x}=2,64-100\%$	5 (n=4)	1,33 - 1,54 - 1,56 - 1,34 $\bar{x}_0 = 1,44 = 54,5\%$
0,5 [25/50]	$\bar{x}=1,30-100\%$	2,5 (n=3)	0,77 - 0,69 - 0,80 $\bar{x}_0 = 0,74 = 56,9\%$
0,2 [10/50]	$\bar{x}=0,61-100\%$	1,0 (n=3)	0,32 - 0,39 - 0,32 $\bar{x}_0 = 0,36 = 55,7\%$
0,1 [5/50]	$\bar{x}=0,27-100\%$	0,5 (n=3)	0,13 - 0,14 - 0,16 $\bar{x}_0 = 0,14 = 51,85\%$
		Tatsächliche Ausbeute $\bar{x} \pm S_{\bar{x}} = 54,57\%$	
		$S_{\bar{x}} = 1,91$	
		$S_{\bar{x}} = 0,85 = 1,56\%$	

Von 20ml n-Heptan werden nach der Extraktion 15ml abpipettiert ($\frac{3}{4} = 75\%$)

Von 3ml 1N-Essigsäure werden nach der Extraktion 2,5ml abpipettiert ($\frac{5}{6} = 75\%$; $\frac{5}{6} \cdot \frac{75}{100} = \frac{62,5}{100} = 62,5\%$)

Von 0,5ml Methanol werden 0,46 ml aus dem Rundkolben ins Spitzglas überführt
($\frac{50}{100}$ von 62,5%; $\frac{46}{100} \cdot \frac{62,5}{100} = \frac{57,5}{100} = 57,5\%$)

$$\frac{15}{20} \cdot \frac{2,5}{3} \cdot \frac{0,46}{0,5} = 0,575 = \frac{57,5}{100} = 57,5\% \text{ (Ideale Ausbeute)}$$

$$\text{Recovery} : 57,5\% : 100\% = \frac{54,57}{100} \cdot \frac{100}{57,5} = 94,9\%$$

Tatsächliche Recovery 94,9% ; echter Verlust von 5,1%

$$54,57 : 1,56 (S_{\bar{x}}\%) = 94,9 : x (S_{\bar{x}}\%)$$

$$x = \frac{94,9 \cdot 1,56}{54,57} = 2,71\%$$

TATSÄCHLICHE RECOVERY : 94,9 $\pm$ 2,71 %

Tab. 3 : Berechnung der Wiederfindungsrate von Ketamin aus dem Serum (Recovery). Gleiche Konzentrationen der Reinsubstanz bzw. deren Peakverhältnisse werden den Peakverhältnissen gleicher Konzentrationen nach der Serumextraktion und-reextraktion gegenübergestellt. Aus der Differenz errechnet sich der echte Verlust an Substanz im gesamten Analysengang. Die tatsächliche Wiederfindung ist mit 94,9 % als ausgezeichnet zu bezeichnen.

Der Beweis, daß es sich bei den bislang erhaltenen Peaks tatsächlich um Ketamin und seine Stoffwechselprodukte gehandelt hat, wird durch die Anwendung weiterer Trennsäulen (XE 60, SE 30, SE 52, OV 225) erbracht. Hierbei fanden wir für jede Säule jeweils identische Retentionszeiten der extrahierten Substanz mit authentischem Ketamin. Die Massenspektrometrie als endgültiger Beweis der Identität der Substanz ist dadurch nicht erforderlich.

Die notwendige Trennung der Muttersubstanz von ihren Metaboliten und dem Standard wird in der Abb. 3 gezeigt. Die Retentionszeiten betragen für das dargestellte Temperaturprogramm 10 Minuten für den Standard, 23 Minuten für das Ketamin, 25 Minuten für den Metaboliten I (N - Demethylierung), 28 Minuten für den Metaboliten II (Cyclohexen-Derivat von Ketamin).

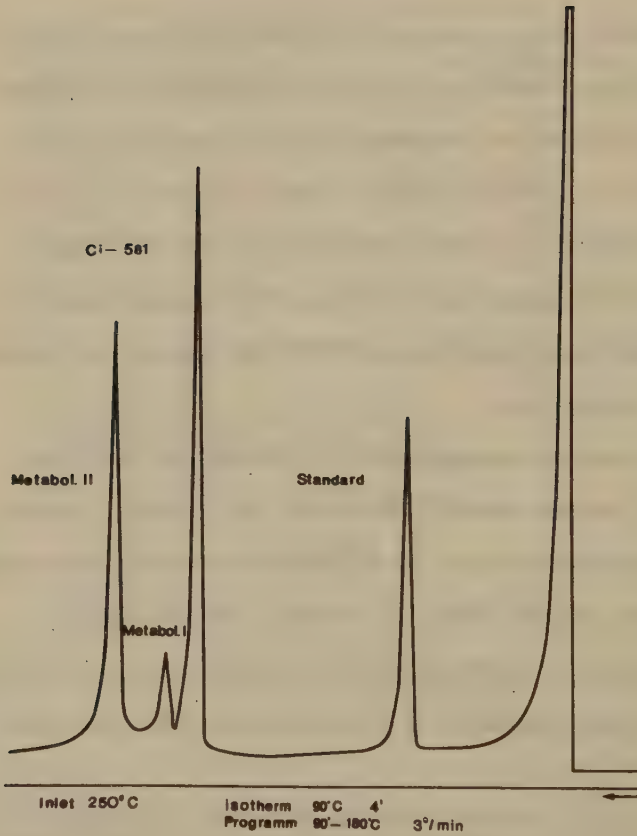


Abb. 3 : Temperaturprogrammiertes Gaschromatogramm der Reinsubstanzen. Von rechts nach links: Lösungsmittelpeak, Standard Methyldiphenylamin, Ketamin, Metabolit I, Metabolit II.

Ein Chromatogramm nach Serumextraktion stellt die folgende Abb. 4 dar, mit einer in Essigsäure reextrahierten Ketaminkonzentration von 2,5 µg/ml. Mit Ketamin interferierende Peaks sind nicht sichtbar. In gleicher Weise aufgearbeitete Leerseren zeigen keine Verunreinigungen.

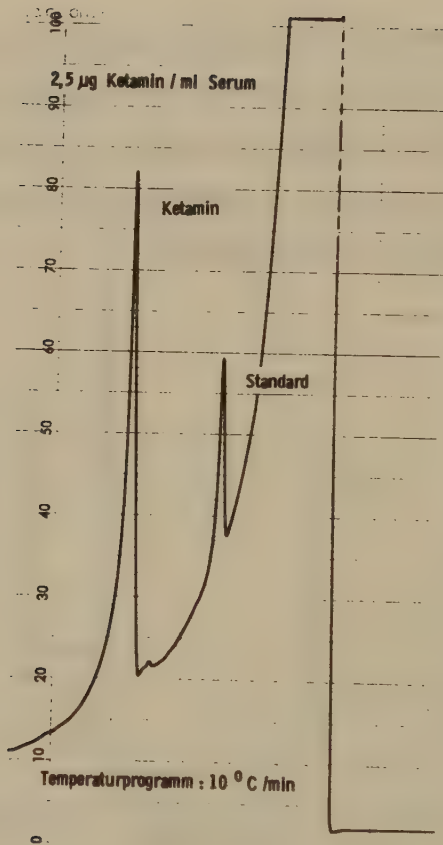


Abb. 4 : Temperaturprogrammiertes Gaschromatogramm eines Serum-extraktes. Von rechts nach links : Lösungsmittelpeak, Standard Methyldiphenylamin, Ketamin.

b) Extraktion und Gaschromatographie von Diazepam.

Bereits 1964 gelang es der Gruppe um de Silva, Schwartz, D'Arconte eine hochempfindliche gaschromatographische Methode für das Diazepam zu entwickeln mit einer unteren Nachweisgrenze von 30 ng/ml Serum. Sie verwendeten erstmals einen "Electron-capture-Detektor". Kondensierte aromatische Verbindungen sowie Verbindungen mit Halogen- und Ketogruppen werden von diesem Detektor besser erfaßt als von einem Flammenionisationsdetektor. Der Methode der Gruppe um de Silva haftet jedoch ein Nachteil an : sie ist nur spezifisch für Diazepam, nachdem es durch 6 N HCl bei 100°C zu 2-Methylamino-5-chlorobenzophenon hydrolysiert worden ist. (Abb.5)

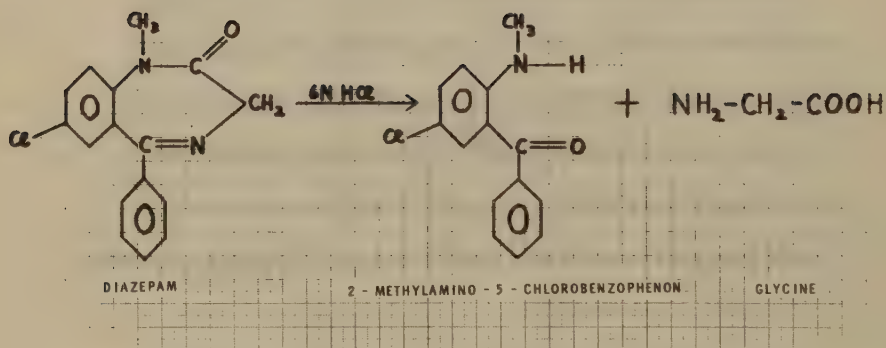


Abb. 5 : Hydrolyse des Diazepam.

Innerhalb 1 - 2 Stunden wird Diazepam in einem Wasserbad von 100°C durch 6 N HCl zu 2-Methylamino-5-chlorobenzophenon hydrolysiert.

Das authentische Diazepam selbst kann nicht nachgewiesen werden. Die umständlichen "clean-up-Schritte" bis zur Einspritzung in den Gaschromatographen sowie die Hydrolyse sind ungemein zeitraubend und führen außerdem zu Substanzverlusten.

Dies war wiederum der Anlaß für uns, eine eigene gaschromatographische Methode für das authentische Diazepam zu entwickeln. Sie sollte in ihrer Empfindlichkeit, Selektivität und Schnelligkeit dem bisher beschriebenen Verfahren überlegen und für den Einsatz in Intensiv- und Gerichtsmedizin geeignet sein.

Unsere Methode hat aufgrund der hohen Empfindlichkeit und Selektivität des Electron-capture-Detektors für diese Substanz nur die einfache Extraktion des Diazepam in Diäthyläther zur Grundlage. Es fehlen die Hydrolyse mit 6 N HCl, jeglicher weiterer Konzentrierungsvorgang und jede Rückextraktion in eine saure wässrige Phase. Aus der mit Na_2SO_4 absolut wasserfrei gemachten Ätherphase wird direkt in den Gaschromatographen eingespritzt. Als interner Standard wird das Hydrolyseprodukt des Diazepam-2-Methylamino-5-chlorobenzophenon-dem Plasma direkt zugesetzt. Der in Propanol gelöste und dem Serum zugegebene Standard macht den ganzen Extraktionsvorgang von Anfang an mit, ein wesentlicher Vor-

teil gegenüber der Methodik beim Ketamin. Beim Pipettieren kannes zu keinem Voluminaverlust und folglich auch zu keinem Substanzverlust kommen. Die untere Nachweisgrenze wird dadurch noch weiter herabgesetzt.

Im einzelnen : Zur Extraktion werden 5 ml Serum (möglich auch 0,5 - 1 ml Serum !), 3 ml Aqua dest und 1 ml interne Standardlösung in 50 ml Schüttelflaschen mit Schliffstopfen gegeben, mit 1 ml 0,1 N Na OH auf einen pH von ca. 9,5 eingestellt und durch 10-minütiges Rühren im geschlossenen Gefäß (Magnetrührer mit Teflonstäbchen) mit 10 ml Diäthyläther extrahiert. Anschließend wird für 2 - 3 Minuten bei ca. 4000 U/min zentrifugiert, um eine scharfe Trennung der Phasen zu erhalten. Darauf wird 1 ml der organischen Phase in ein 10 ml Spritzglas mit Schliffstopfen pipettiert. Winzige Spuren von Wasser in der Probe können den Linearitätsbereich eines Tritium-Detektors für eine Substanz stark verändern. Es ist daher unbedingt empfehlenswert, der Ätherphase im Spritzglas noch ein wenig trockenes Na_2SO_4 zuzu-

setzen. Danach werden mit einer Hamilton-Spritze 2 - 5 μ l in den Gaschromatographen injiziert.

Auch hier wird für die gaschromatographische Auftrennung ein Gerät der Fa. Bodenseewerk Perkin Elmer, Modell F 20 FE mit einem Electron-capture-Detektor benutzt. Die Säulenkriterien sind die gleichen wie bei der Ketamin-Methodik.

0,5 % Polyäthylenglykol 20 000 M mit Chromosorb G (AW-DMCS, 80 - 100 mesh) als Trägermaterial. Die Analyse erfolgt diesmal isotherm bei 185°C. Die Detektortemperatur beträgt 190°C, Inlettemperatur 300°C, der Gasfluß ist auf 52 ml/min N₂ eingestellt.

Die Meßwerte für die Funktion der Regressionsgeraden und den Korrelationskoeffizienten sind aus den folgenden Tabellen 4 und 5 zu entnehmen.

Linear - dynamischer Bereich des mit 100µsec gepulsten Tritium-Electron-Capture-Detektors

(Ti $^3\text{H}_2$. 300 μCi)

Reinsubstanz Diazepam : 1000 ng - 10 ng/ml n-Hexan

Innerer Standard 2-Methylamino - 5 - chlorbenzophenon : 2,5 µg / ml n-Hexan

ng / ml n - Hexan	Peakratio ($h - b \frac{1}{2}$)
1000	2,96
1000	3,05
1000	2,97
1000	2,96
500	1,50
500	1,43
500	1,46
500	1,42
500	1,46
500	1,42
300	0,86
300	0,81
300	0,81
300	0,85
300	0,80
300	0,90
300	0,87
300	0,86
200	0,63
200	0,65
200	0,65
200	0,68
200	0,67
200	0,69
100	0,28
100	0,28
100	0,28
100	0,28
100	0,28
100	0,29
75	0,19
75	0,20
75	0,21
75	0,20
75	0,19
75	0,21
75	0,19
75	0,19
50	0,14
50	0,13
50	0,15
50	0,14
50	0,14
50	0,14
25	0,08
25	0,08
25	0,07
25	0,07
25	0,08
25	0,08
10	0,03
10	0,03
10	0,04
10	0,04

$$y = 0,0028 x - 0,0013$$

$$r = 0,9969$$

Tab. 4 : Linearitätsnachweis der Reinsubstanz Diazepam für den Electron-capture-Detektor. Der linear-dynamische Bereich von zwei Zehner-Potenzen ist bei einem Elektroneneinfangdetektor als ausgesprochen gut zu bezeichnen. Linearität über mehr als zwei Zehner Potenzen ist sehr fraglich. (h = Höhe des Peaks; $b \frac{1}{2}$ = Breite des Peaks in 50 % der Höhe).

Serumextraktion : Diazepam

1000 - 20 ng/ml Serum

Innerer Standard 2 - Methylamino - 5 -chlorobenzophenon : 5 µg/ml Serum

ng/ml Serum	Peakratio (h·b $\frac{1}{2}$)
1000 (n = 4)	1,83 - 1,84 - 1,83 - 1,82
500 (n = 7)	0,92 - 0,98 - 0,89 - 0,81 - 0,88 - 0,99 - 0,93
300 (n = 4)	0,56 - 0,55 - 0,52 - 0,54
200 (n = 5)	0,33 - 0,39 - 0,34 - 0,36 - 0,33
100 (n = 5)	0,20 - 0,18 - 0,19 - 0,20 - 0,20
50 (n = 6)	0,10 - 0,09 - 0,09 - 0,09 - 0,09 - 0,08
20 (n = 6)	0,05 - 0,04 - 0,04 - 0,04 - 0,03 - 0,04

$$y = 0,0018 x - 0,0005$$

$$r = 0,9986$$

Tab. 5 : Linearitätsnachweis der Serumextraktion von Diazepam.
Auch hier findet sich wieder eine direkte Proportionalität zwischen vorgegebenen Konzentrationen und ihren entsprechenden Flächenverhältnissen.

Anders als beim Ketamin werden bekannte, aber verschiedene Diazepam-mengen jetzt mit jeweils gleichen Mengen Standard dem Serum direkt zugegeben und extrahiert. Aus den Meßwerten geht hervor, daß das Verhältnis Peakfläche Diazepam/Standard der Konzentration Diazepam (ng/ml) direkt proportional ist.

Der linear-dynamische Bereich des mit 100 μ sec gepulsten Tritium-Electron-capture-Detektors (Ti $^3\text{H}_3$, Kupfer-Titan-folie) liegt sowohl für das authentische Diazepam als auch für das extrahierte zwischen 10 und 1000 ng/ml.

Durch Einengung und Benutzung größerer Serummengen kann die untere Nachweisgrenze mühelos herabgesetzt werden. Man kann den unteren Nachweis dann sicher mit 1 ng/ml Serum angeben (Absolut : 1 pg bei einer Aufspritzen von 1 μ l).

Die Recovery liegt für 300 ng/ml Serum bei $96,63 \pm 1,26 \%$ (N = 8), für 100 ng/ml Serum bei $98,74 \pm 2,75 \%$ (N = 8).

Die Reproduzierbarkeit ist mit einem Variationskoeffizienten $V_K = 3,19 \%$ (N = 8) für 300 ng/ml Serum, mit einem Variations-

koeffizienten $V_K = 6,72\%$ ($N = 3$) für 100 ng/ml Serum gut (siehe Tab. 6).

Recovery ($\bar{x} + S_x\%$) und Reproduzierbarkeit ($V_K = \frac{s}{\bar{x}} \cdot 100\%$) für Diazepam

(von 10ml organischer Phase werden 8,5ml abpipettiert)

Reinsubstanz		ng/ml Serum	Serumextraktion		
ng/ml n-Hexan	Peakratio		Peakratio (h-bq)		
300	$\bar{x}=0,84=100\%$	300(n=8)	0,68	- 0,69	$\bar{x} = 0,6925 = 82,14\%$ $s = 0,0221$ $s_{\bar{x}} = 0,0074 = 1,07\%$
			0,66	- 0,69	
			0,71	- 0,70	
			0,73	- 0,68	
200	$\bar{x}=0,65=100\%$	200(n=8)	0,53	- 0,52	$\bar{x} = 0,5075 = 78,70\%$ $s = 0,02428$ $s_{\bar{x}} = 0,0085 = 1,67\%$
			0,47	- 0,51	
			0,48	- 0,53	
			0,49	- 0,53	
100	$\bar{x}=0,28=100\%$	100(n=8)	0,22	- 0,23	$\bar{x} = 0,235 = 83,93\%$ $s = 0,0158$ $s_{\bar{x}} = 0,0055 = 2,34\%$
			0,23	- 0,24	
			0,24	- 0,25	
			0,26	- 0,21	

für 8,5ml Ätherphase :

Recovery für 300 ng/ml Serum 82,14 $\pm$ 1,07 % (n=8)
 " " 200 ng/ml Serum 78,07 $\pm$ 1,67 % (n=8)
 " " 100 ng/ml Serum 83,93 $\pm$ 2,34 % (n=8)

für 10ml Ätherphase :

Recovery für 300 ng/ml Serum	96,63 $\pm$ 1,26 %
" " 200 ng/ml Serum	91,85 $\pm$ 1,96 %
" " 100 ng/ml Serum	98,74 $\pm$ 2,75 %

Reproduzierbarkeit für 300 ng/ml Serum : $V_K = \frac{0,0221}{0,6925} \cdot 100\% = 3,19\%$ (n=8)

" " 200 ng/ml Serum : $V_K = \frac{0,0221}{0,5075} \cdot 100\% = 4,78\%$ (n=8)

" " 100 ng/ml Serum : $V_K = \frac{0,0158}{0,235} \cdot 100\% = 6,72\%$ (n=8)

Tab. 6 : Berechnung der Reproduzierbarkeit der Extraktion und der Wiederfindungsrate (Recovery) von Diazepam aus dem Serum. Bei der Berechnung der Ausbeute werden gleiche Konzentrationen der Reinsubstanz - gelöst in n-Hexan - gleichen Serumkonzentrationen nach deren Extraktion in Diäthyläther gegenübergestellt. Aus der Differenz errechnet sich der echte Verlust an Substanz im gesamten Analysengang.

Zur Identifizierung von Diazepam wird eine weitere Säule (3 % OV 17) verwendet. Auch hier finden sich identische Retentionszeiten zwischen dem authentischen und aus Serum extrahiertem Diazepam.

Die notwendige Trennung der Muttersubstanz von ihren Metaboliten zeigt die folgende Abb. 6 : Lösungsmittelpeak durch Diäthyläther, interner Standard 2-Methylamino-5-chlorobenzenphenon, das im Organismus nicht gebildete Hydrolyseprodukt der Muttersubstanz (Retentionszeit 1' 30"), danach der sowohl hydroxylierte als auch N-demethylierte Metabolit II (Retentionszeit 6'), das Diazepam (Retentionszeit 8'), zum Schluß der wichtigste N-demethylierte Metabolit I (Retentionszeit 16').

Diazepam sowie seine beiden Metaboliten und das Hydrolyseprodukt wurden uns in gereinigter Form von der Fa. Hoffmann La Roche zur Verfügung gestellt.

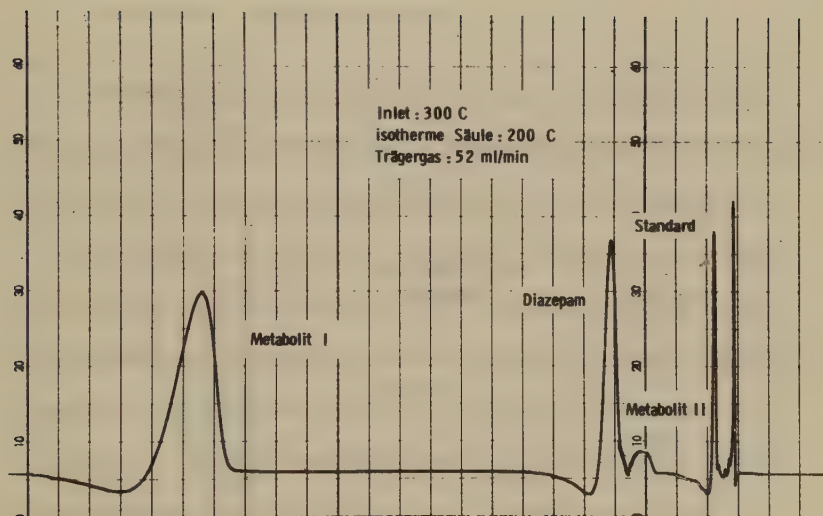


Abb. 6 : Isothermes Gaschromatogramm der Reinsubstanzen.
Von rechts nach links : Lösungsmittelpeak, interner
Standard 2-Methylamino-5-chlorobenzophenon, Meta-
bolit II, Diazepam, Metabolit I.

Eine Serumextraktion von 500 ng/ml wird in der Abb. 7 darge-
stellt. Störende, mit Diazepam interferierende Peaks sind im
Leerserum auch im niedrigen Konzentrationsbereich nicht vor-
handen.

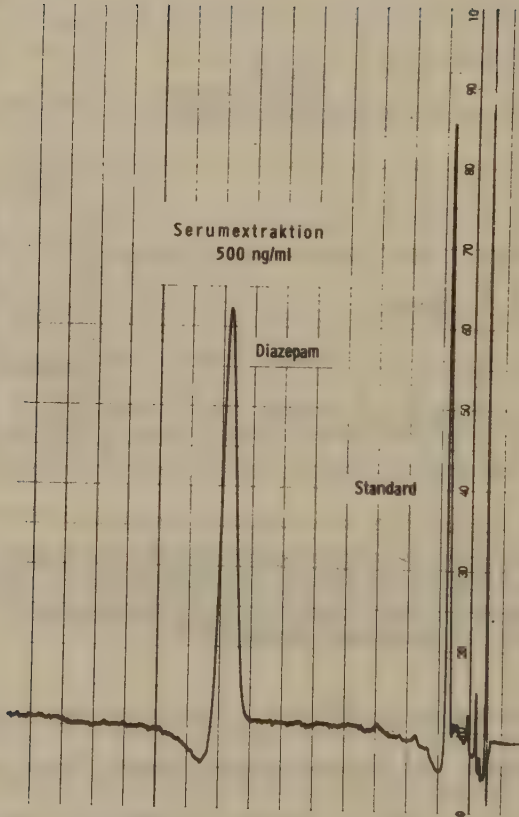


Abb. 7 : Isothermes Gaschromatogramm eines Serumextraktes.
Von rechts nach links : Lösungsmittelpeak, interner
Standard 2-Methylamino-5-chlorobenzophenon, Diazepam.

c) Klinische Versuchsanordnung.

Die Indikation zur Anwendung von Ketamin und Diazepam in der Geburtshilfe ist die Verhinderung des Durchtrittschmerzes bzw. des Schmerzes bei der Episiotomienacht, wenn ein komplikationsloser Schwangerschaftsverlauf bestanden hat und keine speziellen Indikationen von Seiten der Mutter oder des Kindes zu anderen geburtshilflichen Eingriffen bestehen. Die Durchtrittsnarkose - bei Diazepam wird besser von einer Pseudo-Narkose gesprochen - erfolgt durch intravenöse Injektionen von 1,5 mg Ketamin/kg KG (N = 12), bzw. durch 0,2 mg Diazepam/kg KG (N = 10). Bei 5 Schwangeren ist zur Entbindung eine Episiotomie notwendig. Als Injektionsbeginn wählt man den Zeitpunkt kurz vor dem Durchtritt des Kopfes. Die Abnabelung erfolgt 3 - 5 Minuten nach der Injektion. Unmittelbar darauf werden gleichzeitig die mütterliche Vena basilica sowie die zur Placenta führende Nabelvene punktiert. Bei 2 Ketamin- und 2 Diazepaminjektionen entnehmen wir zusätzlich aus der vom Neugeborenen kommenden Nabelarterie ca. 2 ml Blut.

III. Ergebnisse der Untersuchungen am Menschen.

In einem Zeitraum von 3 - 5 Minuten nach der i.v.-Injektion wurden bei 12 Ketaminnarkosen in etwa identische Konzentrationen im mütterlichen Serum und im Serum der Nabelvene gefunden. Identische Werte ergeben sich auch bei 10 Diazepam "Pseudonarkosen". Die einzelnen Ergebnisse werden in den Tabellen 7 und 8 dargestellt.

KETAMIN-KONZENTRATION

im mütterlichen (MP) sowie im fetalen Plasma (FP) der Nabelvene.

Abnabelung 3-5,5 Minuten nach der i. v. -Injektion. 1,5 mg/kg KG

Patient	Gesamtdosis i. v	MP µg/ml	FP µg/ml	Ratio MP/FP
D. A	83,7	0,75	0,61	1,23
M. G	110	1,03	1,00	1,03
Y. H	108	1,18	0,30	3,93
Sch. E	88	0,56	0,61	0,92
A. J	122	1,24	1,55	0,80
G. M	100	1,35	1,18	1,14
V. S	124	1,24	1,20	1,03
H. H	105	0,96	0,91	1,05
K. M (5'30)	121	1,33	1,27	1,05
M. S	114	0,86	0,93	0,92
T. A	93	1,07	0,98	1,09
D. E (3'29)	91	1,34	1,27	1,06

Klinik : Appar 10

Tab. 7 : Die Ratio MP/FP zeigt deutlich, daß die Konzentrationen des lipophilen Ketamin diesseits und jenseits der Placentarmembran praktisch identisch sind. Von einer Ratio MP/FP > 1 wird in der Literatur berichtet (Goldstein et al., 1969). Bei Narkotica mit kurzer oder mittellanger Halbwertszeit soll sie auf den trägen Verteilungsprozeß der Substanz im Organismus des Neugeborenen hinweisen. Dieser Effekt ist gering und von keiner praktischen Konsequenz.

DIAZEPAM-KONZENTRATION

im mütterlichen (MP) sowie im fetalen Plasma (FP) der Nabelvene.

Abnabelung 3 - 5 Minuten nach der i.v. - Injektion, 0,2 mg/kg KG

Patient	Gesamtdosis i.v.	MP ng/ml	FP ng/ml	Ratio MP/FP
E. M.	13,1	730	702	1,04
G. K.	14,2	736	744	0,99
J. K.	14,9	880	866	1,02
U. Sch.	12,2	702	663	1,06
D. Sch.	13,0	858	838	1,02
A. C.	15,1	638	658	0,97
Ch. A.	23,8	719	738	0,97
B. R.	13,5	638	613	1,04
B. M.	13,6	672	667	1,01
E. H.	14,4	641	632	1,02

Klinik: Apgar 10

Tab. 8 : Die Ratio MP/FP zeigt auch hier, daß die Konzentrationen des Diazepam diesseits und jenseits der Placentarmembran praktisch identisch sind. Auch hier eine Ratio MP/FP > 1.

Die Ketamindurchschnittskonzentration liegt bei der Mutter bei 1,08 µg/ml, in der Nabelvene bei 0,98 µg/ml.

Die Diazepamdurchschnittskonzentration beträgt bei der Mutter

725 ng/ml und 710 ng/ml in der Nabelvene. Bei Verwendung des t-Testes nach Student zum Vergleich von Versuchspaaren ergibt sich kein signifikanter Unterschied zwischen der Serumkonzentration der Mutter und der Nabelvene des Neugeborenen sowohl für Ketamin ($0,5 > p > 0,1$) als auch für Diazepam ($p > 0,5$).

Als ein vorläufiges Ergebnis sind die erhaltenen Ketamin- und Diazepamkonzentrationen im Nabelarterienblut zum Zeitpunkt der Blutentnahme zu betrachten. Sie liegen niedriger als im mütterlichen Serum, bzw. im Serum der Nabelvene. (Ketaminkonzentration $\approx 0,6 \mu\text{g/ml}$, Diazepamkonzentration $\approx 500 \text{ ng/ml}$).

Zur Klinik ist folgendes zu sagen :

Anästhesierte Mütter bringen kräftig schreiende Kinder zur Welt. Klinische Kontrollen durch Apgar und Astrup zeigen im wesentlichen keine Depression des Herz-Kreislaufsystems sowie der Atmung zum Zeitpunkt der Abnabelung oder später.

Zwei Ausnahmen weisen eindeutig gynäkologische Komplikationen auf.

IV. Diskussion der Ergebnisse.

Bekannt ist, daß die Konzentration eines Medikamentes im Serum von der Größe des Raumes abhängig ist, auf welchen es sich nach seiner intravenösen Injektion verteilt. Je größer nun ein solcher Raum ist, desto geringer muß die gemessene Konzentration des Medikamentes im Serum sein (Dost, 1968). Man nennt diesen fiktiven Raum das Verteilungsvolumen des zu untersuchenden Medikamentes. Konzentrationsabläufe eines Pharmakons im Blut werden als Störung und Wiederherstellung eines Fließgleichgewichts (steady state) betrachtet. Der Begriff des Verteilungsvolumens gibt nun eine Aussage darüber, wie groß das Volumen, in welchem das Fließgleichgewicht gestört wird, zu beziffern ist, wenn überall die gleiche Konzentration des inkorporierten Pharmakons angenommen wird.

Es wird definiert durch die Bezeichnung

$$V \text{ (ml)} = \frac{D \text{ (mg)}}{Y_o \text{ (mg/ml)}} \quad (\text{nach Dost})$$

(D = intravenös injizierte Dosis, Y_o = initial fiktive Serumkonzentration).

Die Größe Y_0 läßt sich durch Extrapolation des experimentell ermittelten Konzentrationsablaufes eines Medikamentes im Serum auf den Zeitpunkt $t = 0$ gewinnen.

Da für den Menschen bei der Untersuchung der diaplazentaren Passage stets nur ein Zeitpunkt aus der Gesamtkinetik eines Stoffes experimentell erfaßt werden kann - nämlich der Zeitpunkt der Entbindung - wird etwas großzügig bei durchschnittlich 4 Minuten dauernder Entbindungszeit die gemessene Serumkonzentration bei der Mutter der fiktiven, initialen Serumkonzentration gleichgesetzt.

Das absolute und das relative Verteilungsvolumen - letzteres ist lediglich eine aus praktischen Gründen notwendige Umrechnung auf 1 kg des Körpergewichtes - kann dann für beide Substanzen ungefähr errechnet werden. Aus den Tabellen 7 und 8 werden die Verteilungsvolumina jeder einzelnen Patientin nach der Dost'schen Formel errechnet, danach mittelt man für $N = 12$ beim Ketamin und $N = 10$ beim Diazepam die jeweilige Vertei-

lungsvolumina.

Daraus ergibt sich für Ketamin :

$V_{\text{abs.}} = 97 \text{ l}$

$V_{\text{rel.}} = 1,39 \text{ l/kg KG}$

Für Diazepam :

$V_{\text{abs.}} = 20 \text{ l}$

$V_{\text{rel.}} = 0,27 \text{ l/kg KG}$

Aus diesen unterschiedlichen Verteilungsvolumina von Ketamin und Diazepam lassen sich die bei 7-fach höherer Ketamin-Dosierung zunächst verblüffend wirkenden, annähernd gleichen Serumkonzentrationen beider Medikamente erklären.

Die erhaltenen Ergebnisse zeigen, daß das gut fettlösliche Ketamin und Diazepam die Placentarschranke rasch und vollständig passieren, wahrscheinlich nach den Gesetzen der Diffusion. Daß es dennoch zu keiner narkotischen Wirkung auf das Kind kommt, läßt sich aus einem pharmakokinetischen Modell (Abb. 8) ableiten.

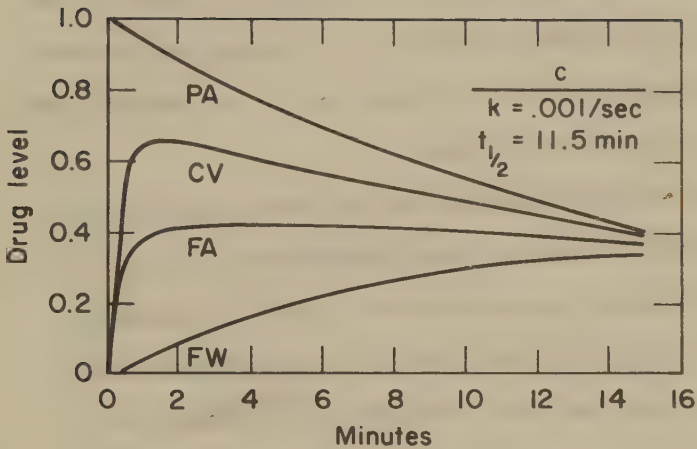


Abb. 3 : nach Goldstein und Mitarb. : Modell der Konzentrationsverläufe im Blut der Mutter (PA), der Nabelvene (CV), der Nabelarterie (FA) und im fetalen Gewebe (FW) für ein mittellang wirkendes Anästheticum (Halbwertszeit 11,5 min).

Goldstein und Mitarbeiter konnten über mathematische Berechnungen am Analogcomputer zeigen, daß es bei rasch abfallenden Konzentrationen einer Substanz im mütterlichen Serum - wie im

Fälle des Ketamin und auch des Diazepam in der initialen Phase - zu Gewebskonzentrationen beim Foeten kommt, die lediglich einen Bruchteil der im mütterlichen Serum und im Serum der Nabelvene nachweisbaren Konzentrationen ausmachen. Es sind subnarkotische Werte für das Gehirn des Foeten.

Die entsprechenden Konzentrationen von Ketamin und Diazepam im mütterlichen Serum, im Serum der Nabelvene und -arterie sind in Anlehnung an das beschriebene Modell von Goldstein in Abb. 9 dargestellt. Man sieht, daß unsere experimentellen Ergebnisse recht gut mit den theoretischen Berechnungen von Goldstein am Analogcomputer übereinstimmen.

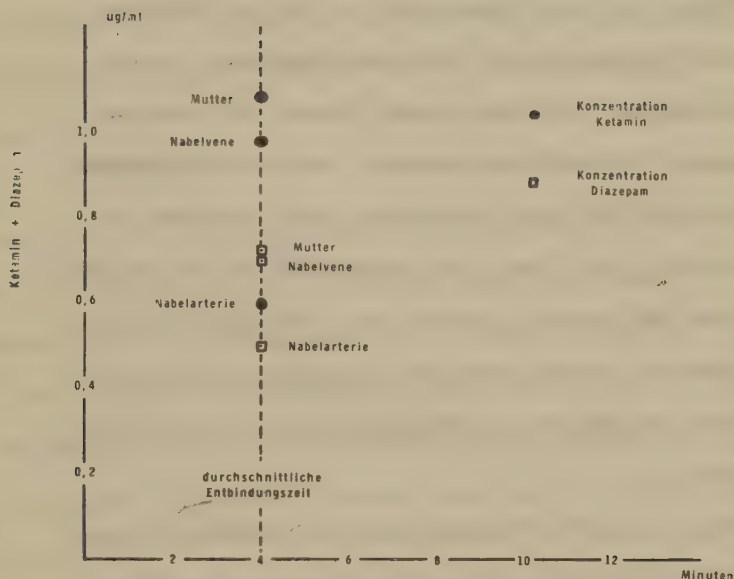


Abb. 9, in Anlehnung an Abb. 6 : Die mütterlichen Konzentrationen von Ketamin und Diazepam sind in der Goldstein'schen Abbildung im Konzentrationsverlauf PA dargestellt, Nabelvenen- und Nabelarterienkonzentration in den Konzentrationsverläufen CV und FA. Die Konzentration im Gewebe des Foeten kann experimentell nur beim Absterben der Frucht kurz vor der Entbindung ermittelt werden.

Zusätzlich zu diesem Vorgang kommt es nach der Abnabelung zu einer Neuverteilung im kindlichen Organismus, wobei das Narkotikum aus blutreichen Geweben (Gehirn) in Gewebe mit geringerer Blutversorgung abwandert. Weiter ist zu beachten, daß die schnellste Äquilibration zwischen kindlichem und mütterlichem Serum immer noch langsamer ist als die zwischen Kreislauf und Gehirn der Mutter. Die im Vergleich zum Gehirn geringere und weniger direkte Blutversorgung der Placenta verzögert den Übertritt des Narkotikums in die fetale Zirkulation.

Die theoretischen Vorstellungen des Stofftransfers zwischen Mutter und Kind, die experimentellen Ergebnisse, der Neuverteilungsvorgang nach der Abnabelung sowie die Kenntnisse über die Blutversorgung von Cerebrum und Placenta erklären, warum es trotz gleicher Konzentration im mütterlichen Serum und im Serum der Nabelvene zu keiner spürbaren narkotisierten Wirkung auf das Kind kommt. Gleiche Konzentrationen diesseits und jenseits der Placentarmembran sagen nichts aus über die

Konzentration der Pharmakons in der den Rezeptor beinhaltenden sogenannten "Diophase" (GARRETT, 1967) des kindlichen Organismus.

Wenn die zur Zeit gebräuchlichen lipophilen Anästhetica hinsichtlich ihrer Wirkung auf den Foeten exakter untersucht werden, wird man erkennen, daß es kein ideales Narkotikum für die geburtshilfliche Anästhesie geben wird. Für den Anästhesisten ist es wichtig zu wissen, daß es weniger auf die Agentien selbst als vielmehr auf ihre rationale Anwendung ankommt.

V. Zusammenfassung

Es wird über die Placentarpassage und den Äquilibrierungsgrad von Ketamin und Diazepam nach einer Entbindungszeit von 4 Minuten berichtet. Die Konzentrationen im mütterlichen Serum und im Serum der Nabelschnur werden mit Hilfe einer eigenständig entwickelten gaschromatographischen Methode bestimmt.

Die Recovery für Ketamin beträgt ca. $95 \pm 3 \%$, für Diazepam ca. $97 \pm 2 \%$. Untere Nachweisgrenze für das erste Medikament $0,1 \mu\text{g/ml}$ Serum, für das zweite 10 ng/ml .

Die Reproduzierbarkeit ist mit einem Variationskoeffizienten von $V_K = 9,3 \%$ (Ketamin) und von $V_K = 5 \%$ (Diazepam) befriedigend.

In allen Versuchen wird ein annäherndes Verteilungsverhältnis von 1 : 1 für Ketamin bzw. Diazepam im mütterlichen Serum und im Serum der Nabelvene gefunden. 30 - 40 % niedriger liegen die Werte im Serum der Nabelarterie. Bei durchschnittlich 4 Minuten dauernder Entbindungszeit werden für Ketamin fol-

gende Konzentrationen bestimmt : 1 $\mu\text{g/ml}$ im Serum der Mutter und der Nabelvene, 0,6 $\mu\text{g/ml}$ im Serum der Nabelarterie.

Für Diazepam : 0,70 $\mu\text{g/ml}$ im Serum der Mutter und der Nabelvene, 0,5 $\mu\text{g/ml}$ im Serum der Nabelarterie.

Klinisch zeigen die Neugeborenen keine Depression des Herz- und Kreislaufsystems sowie der Atmung zum Zeitpunkt der Abnabelung.

An Hand theoretischer Berechnungen und experimenteller Ergebnisse wird verständlich gemacht, daß es zu diesem Abnabelungszeitpunkt pharmakokinetisch überhaupt zu keiner Depression des ZNS des Foeten kommen kann. Weiter wird bewiesen, daß es für lipophile Medikamente eine sogenannte Placentarschranke nicht gibt. Sie diffundieren praktisch augenblicklich in den foetalen Kreislauf.

VI. Literatur

- (1) Baumgartner, S. :
Med. Welt 23, No 3, 95 - 97 (1972)
- (2) Chai, C.Y., Wang, S.C., :
7. Pharmacolog. exp. Ther. 154 (1966)
- (3) Chang, T., Savory, A., Albin, M., Goulet, R. and
Glazko, A.J. :
Clin. Res. 18, (1970) 597
- (4) Chang, T., Dill, W.A., Glazko, A.J. :
Fed. Proc., 24, (1965) 268
- (5) Chen, G. :
The Pharmacology of Ketamine, Anaesthesiologie und
Wiederbel. Springer-Verlag 1969, 1 - 11
- (6) Corssen, G., Miyasaka, M., Domino, E.F. :
Dissociative Anaesthesia mit Ketamine, Anaesthesiolog.
und Wiederbel., Springer-Verlag 1969
- (7) Dill, W.A., Chucot, L., Chang, T. and Glazko, A.J. :
Anaesthesiology 34, (1971) 73
- (8) Domino, E.F., Chodoff, P., Corssen, G. :
Clin. Pharmacolog. Ther. 6, 279 (1965)

- (9) Dost, F.H. :
Grundlagen der Pharmakokinetik, Georg-Thieme-Verlag
Stuttgart 1963
- (10) Erkkola, R., Kanto, J. :
Diazepam and Breast-Feeding, the Lancet 1972, 1235 - 1236
- (11) Garrett, E.R., Agren, A.J., Lambert, H.J. :
Pharmacokinetic analysis of receptor site models in multi-
compartmental systems, Int. J. Clin. Pharm. 1, 1 (1967)
- (12) Goldstein, A., Aronow, L., Kalman, S.M. :
Principles of Drug Action. Hoebner Medical Division
Harper and Row, Publishers, New York, Evanston an
London (1969) 179 - 194
- (13) Hüter, J. :
Klin. Wschr. 46. Jahrg., Heft 13 (1968) 681 - 687
- (14) Kaiser, R. :
Chromatographie in der Gasphase. IV. Band, 1969
Hochschultaschenbücher-Verlag
- (15) Kaufmann, R., Bonstein, J. :
Psychanalgesie an Valium "Roche" intraveineux en gynécologie
et en obstétrique. Anästhesie-Kongreß Bern 1971

- (16) Kaump, D.H., Kurtz, S.M., Fisker, R.A., Schardein, J.L.,
Roll, D.E., Reutner, T.T. :
Toxicology of Ketamine, Anaesthesiolog. und Wiederbel.
Springer-Verlag 1969
- (17) Kugler, J., Doenicke, A., Laub, M., Kleinert, H. :
Electroencephalogr. Untersuchungen bei Ketamine,
Anaesthesiolog. und Wiederbel., Springer-Verlag 1969
- (18) Langrehr, D. :
actuelle Chirurgie Band 4 (1969) Heft 2, 71
- (19) Langrehr, D., Stolp, W., Kluge, J., Haas, A. :
Prakt. Anästhesie und Wiederbelebung, 5. Jahrgang
Heft 3 (1970) 145
- (20) Langrehr, D., Alai, P., Andjelkovic, J., Kluge, J. :
Anaesthesist, Vol. 17, Heft 10, (1967), 308 - 318
- (21) Nodine, J.H., Moyer, J.H. :
Psychosomatic Medicine (I. Hahnemann-Symposium), Lea
und Febiger Philadelphia 1964, 476 - 479
- (22) Pletscher, A. :
In : K. Fellingner : Funktionsabläufe unter emotionellen
Belastungen. S. 25 - 42, Basel : S. Karger (1964)

- (23) Randall, L.O., Scheckel, C.L., Banziger, R.F. :
Curr. Therap. Res., 7, No 9, (1965)
- (24) Randall, L.O., Heise, G.A., Schalleck, W., Bagdom, R.E.,
Banziger, R., Boris, A., Moe, R.A. :
Curr. Therap. Res., 3, No 9 (1961)
- (25) Revaz, M.M.C., Papadopoulos, S., Bossart, H., Gétaz, D. :
Action du Valium sur la santé foetale in utero et post-
partum. 21. Congr. Soc. Gynecol. Obstet de Langue
francaise, Lausanne Sep. 5-8, 1965, pp. 460 - 462
Massou Paris, Fr. (1967)
- (26) Richterich, H. :
Klin. Chemie, S. Karger-Verlag, Basel 1968
- (27) de Silva, J.A.F., Schwartz, M.A., Stefanovic, V.,
Kaplan, J., D'Arconte, L. :
Analyt. Chemistry 36, 11, 2099 - 2105 (1964)
- (28) de Silva, J.A.F., Koechlin, B.A., Bader, G. :
J. Pharm. sci. 55, 692 - 702 (1966)
- (29) de Silva, J.A.F., Puglisi, C.V. :
Analyt. Chemistry, Vol. 42, Page 1725 (1970)
- (30) de Silva, J.A.F., D'Arconte, L., Kaplan, J. :
Curr. Therap. Res., 6, (1964), S. 115 - 121

- (31) Szappanyos, A., Beaumanoix, A., Gemperle, G., Gemperle, M.,
Moret, P. :
The Effect of Ketamine on the Cardiovascular and Central
Nervus System, Anaesthesiolog. und Wiederbel. Springer-
Verlag 1969
- (32) Toulouse, R. :
Fortschr. Geburtsh. Gynäk., Vol 19 pp. 200 - 211 (1964)
- (33) Tulzer, W. :
Wien. Klin. Wschr. 82, No 17, 304 - 307 (1970)
- (34) Viala, A., Cano, J.P., Angeletti-Philippe, A. :
7. Eur. Toxicol. 3, No 2, 109 - 120 (1971)
- (35) Wieber, J., Gugler, R., Eichelbaum, M., Witkop, H.J. :
Diaplacentare Passage von Ketamin und Diazepam beim
Menschen. Kongreß der Deutschen Gesellschaft für
Anaesthesiologie und Wiederbelebung. Hamburg, November 1972

Herrn Professor Dr.med. H. L'Allemand
danke ich für die Überlassung des
Themas. Ihm, Herrn Professor Dr.med.
H.J. Dengler sowie Herrn Dr.med.
J. Wieber danke ich für die Unter-
stützung bei der Durchführung der
Arbeit.

VII. Lebenslauf

Am 20. 11. 1923 wurde ich, Hans-Jochen Witkop, als Sohn des Hotelbesitzers Max Witkop und seiner Ehefrau Margarete geb. Mayerhofer in Braunfels an der Lahn geboren.

Nach 4 Grundschuljahren in Braunfels wurde ich 1934 in das Goethe-Gymnasium in Wetzlar aufgenommen und legte dort im Februar 1942 die Reifeprüfung ab. Im März 1942 wurde ich zur Luftwaffe eingezogen. Im gleichen Jahr erfolgte die Immatrikulation (Fernimmatrikulation) an der Justus-Liebig-Universität Gießen für das Studium der Medizin.

Im Dezember 1947 wurde ich aus der Gefangenschaft entlassen und konnte im SS 1949 in Würzburg mit meinem Studium beginnen. Nach zwei Semestern wechselte ich die Universität und schloß mein Studium am 15. Februar 1955 in Marburg mit dem Staatsexamen ab.

Ich bin verheiratet und habe fünf Kinder. Zur Zeit bin ich als Oberarzt an der Medizinischen Abteilung des Stadtkrankenhauses Wetzlar (Chefarzt Prof. Dr.med. Karl Klütsch) tätig.

VII. Lebenslauf

Am 20. 11. 1923 wurde ich, Hans-Jochen Wittig, als Sohn des
Kontrollleiters Hans Wittig und seiner Ehefrau Margarete geb.
Hörschler in Braunsfels an der Lahn geboren.
Nach 4 Grundschuljahren in Braunsfels wurde ich 1935 in das
Gottlieb-Gymnasium in Weimar aufgenommen und legte dort im
Februar 1942 die Reifeprüfung ab. Im März 1943 wurde ich
zur Luftwaffe eingezogen. Im gleichen Jahr erfolgte die
Immatrikulation (Kommunikationslehre) an der Justus-Liebig-
Universität Gießen für das Studium der Medizin.
Im Dezember 1947 wurde ich aus der Wehrmacht entlas-
sen und kehrte im SS 1949 in Weimar mit neuem Studium
beginnen. Nach zwei Semestern wechselte ich die Universität
und schloß mein Studium am 15. Februar 1952 in Weimar mit
dem Staatsexamen ab.
Ich bin verheiratet und habe fünf Kinder. Zur Zeit bin ich
als Oberarzt an der Medizinischen Abteilung des Städtischen
Kranken Weimar (Chefarzt Prof. Dr. med. Karl Klusack) tätig.

